

Ilmu Pertanian Vol. 15 No.2, 2012 : 1 - 18

STUDI KETAHANAN MELON (*Cucumis melo* L) TERHADAP LAYU FUSARIUM SECARA *IN-VITRO* DAN KAITANNYA DENGAN ASAM SALISILAT

Bambang Sujatmiko¹, Endang Sulistyaningsih², Rudi Hari Murti²

INTISARI

Layu fusarium adalah penyakit utama melon yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. melonis (Fom). Pemuliaan tanaman secara *in-vitro* melalui variasi somaklonal telah digunakan selama beberapa dekade untuk perbaikan karakter ketahanan tanaman. Asam salisilat diketahui sebagai salah satu senyawa yang berperan penting terhadap ketahanan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi optimal dari asam fusarat yang dapat digunakan untuk tujuan skrining ketahanan layu fusarium secara *in-vitro*, mendapatkan tanaman tahan melalui seleksi *in-vitro* dan mengetahui hubungan kandungan asam salisilat dengan ketahanan tanaman melon terhadap layu fusarium. Kalus lima galur melon dipaparkan pada empat konsentrasi asam fusarat yaitu 0 ppm, 15 ppm, 30 ppm, dan 60 ppm. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan kalus melon pada media dengan konsentrasi 0 dan 15 ppm tidak berbeda, penurunan pertumbuhan kalus mulai terlihat pada konsentrasi 30 ppm dan berlanjut pada konsentrasi 60 ppm. Galur paling tahan adalah galur M-21, sedangkan galur yang paling responsif saat regenerasi adalah galur M-13. Pertumbuhan kalus pada media seleksi dipengaruhi oleh genotipe masing-masing. Kalus yang mampu beregenerasi dan menghasilkan plantlet kemudian dinyatakan sebagai plantlet yang tahan pada tingkat *in-vitro*. Tanaman tahan memiliki kandungan asam salisilat alami (*endogenous*) lebih tinggi.

Kata kunci: *Fusarium oxysporum* f.sp. melonis, *Cucumis melo* L., asam fusarat, skrining *in-vitro*, asam salisilat, ketahanan.

PENDAHULUAN

Melon (*Cucumis melo* L.) merupakan tanaman buah semusim yang penting di Indonesia. Produksi melon meningkat terus-menerus pada periode 2004-2009 (BPS 2009). Pada umumnya budidaya tanaman buah dilakukan secara monokultur dan intensif sehingga sering menimbulkan serangan hama penyakit.

¹ Mahasiswa S2 Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta

² Dosen Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta

Layu fusarium adalah salah satu penyakit utama tanaman melon. Patogen penyebab layu fusarium pada melon adalah *Fusarium oxysporum* f.sp. melonis. Serangan layu fusarium bisa terjadi hampir di semua tahapan pertumbuhan tanaman mulai dari bibit sampai tanaman dewasa. Kerusakan akibat layu fusarium pada tanaman melon bisa mencapai 60%. Hingga saat ini diketahui terdapat empat ras Fom yaitu ras 0, 1, 2 dan ras 1,2 tipe *wilting* dan *yellowing* (Sumirat, 2003; Zitter, 1998).

Ras pada Fom diketahui berkaitan dengan gen pengendali pada tanaman. Tanaman yang memiliki gen ketahanan *Fom 1* dan *Fom 3* menyebabkan tanaman tahan terhadap ras 0 dan 2, sedangkan gen *Fom 2* membuat tanaman tahan terhadap ras 0 dan 1. Ketahanan terhadap ras 1,2 dilaporkan dikendalikan oleh interaksi beberapa gen dimana tipe *wilting* interaksi gen bersifat dominan sebagian, sementara itu pada tipe *yellowing* bersifat resesif (Risser *et al.*, 1976; Rouhou *et al.*, 2008; Zink *et al.*, 1985).

Fusarium oxysporum secara umum dapat bertahan di dalam tanah sebagai kladospora yang merupakan bentuk modifikasi dari miselium. Patogen ini dalam bentuk kladospora dapat bertahan hingga bertahun-tahun. Hal ini menyebabkan pengendalian serangan Fom menggunakan fungisida tidak efektif. Penggunaan fungisida hanya bisa menurunkan tingkat serangan Fom pada melon maksimal sebesar 40% (Zitter, 1998). Oleh karena itu, perakitan tanaman tahan terhadap Fom adalah cara yang efektif dan ramah lingkungan untuk pengendalian serangan Fom.

Teknik *in-vitro* merupakan teknik yang berkembang dan sering diaplikasikan untuk perbaikan karakter tanaman termasuk pada karakter ketahanan tanaman. Variasi somaklonal dan seleksi *in-vitro* adalah dua teknik yang sering digunakan pada kultur *in-vitro* untuk perbaikan karakter tanaman. Larkin dan Scowcroft (1981) menyatakan bahwa variasi somaklonal adalah keragaman genetik yang diperoleh melalui induksi secara *in-vitro*. Keragaman yang diperoleh dapat bersifat diturunkan.

Sedangkan seleksi *in-vitro* adalah seleksi yang dilakukan terhadap eksplan pada kultur *in-vitro* menggunakan elisitor (Predieri, 2001).

Seleksi ketahanan terhadap layu fusarium dapat dilakukan menggunakan filtrat dari kultur fusarium atau menggunakan racun murni fusarium yaitu asam fusarat. Penggunaan asam fusarat pada seleksi *in-vitro* disebabkan asam fusarat yang bersifat pathogenesis dan general terhadap tumbuhan sehingga bisa diaplikasikan untuk banyak tanaman. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penambahan asam fusarat pada media sebagai komponen seleksi berkorelasi dengan tingkat ketahanan tanaman terhadap fusarium pada tingkat lapang. Pendekatan seleksi *in-vitro* dilaporkan telah menghasilkan banyak varietas tanaman tahan di antaranya pada tanaman pisang, vanili, gandum, dan semangka (Bacon *et al.*, 1996; Sukmadjaja *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2008; Venter dan Steyn, 1998).

Mekanisme ketahanan tanaman terhadap penyakit dapat berupa ketahanan secara fisik maupun kimia. Salah satu bentuk ketahanan secara kimia adalah asam salisilat. Asam salisilat lebih dominan untuk mengatasi serangan patogen biotrof (patogen yang aktif pada jaringan hidup) dan virus. Pembentukan senyawa asam salisilat ini merupakan bentuk pengaktifan gen ketahanan pada tanaman (*R gene*) akibat adanya gen virulensi pada patogen (*vir gene*). Mekanisme ketahanan melalui jalur asam salisilat berhubungan dengan protein-protein yang terkait dengan pathogenesis (*pathogenesis-related proteins/PR proteins*) seperti kitinase, peroksidase, β -glukanase dan PR-1 (Corina *et al.*, 2009; Rebecca *et al.*, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi optimal dari asam fusarat yang dapat digunakan untuk tujuan skrining ketahanan layu fusarium secara *in-vitro*, mendapatkan tanaman tahan melalui seleksi *in-vitro* dan mengetahui hubungan kandungan asam salisilat dengan ketahanan tanaman melon terhadap layu fusarium.

BAHAN DAN METODE

Lima galur melon digunakan sebagai eksplan yang diskriming yaitu M-8, M-13, M-21, M-27, dan M-72 adalah jenis melon *table* dari PT. BISI International, Tbk. yang tahan terhadap Gemini virus. Asam fusarat (Sigma, St. Louis, USA) ditambahkan ke dalam media sebagai komponen seleksi. Eksplan yang diskriming adalah kalus yang diinduksi dari kotiledon. Inokulum Fom isolat MEKP 3.2 dari Karangploso Malang.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: *laminar air flow* (LAF) cabinet (Esco, Singapore), autoklaf (ALP, Japan), oven (Binder, New York, USA), *high pressure liquid chromatography* (Shimadzu, Japan), timbangan analitik, pH meter, botol kultur, pinset, pisau scalpel, dan cawan Petri.

Media yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari empat jenis media yaitu: media perkecambahan, media induksi kalus, media seleksi, dan media regenerasi. Media perkecambahan digunakan untuk menumbuhkan biji yang selanjutnya diperoleh kotiledon sebagai bahan induksi kalus. Media induksi kalus digunakan untuk menginduksi kotiledon menjadi kalus. Media seleksi digunakan untuk menskrining kalus yang diperoleh sedangkan media regenerasi digunakan untuk menginduksi kalus yang tahan menjadi plantlet.

Evaluasi ketahanan dilakukan pada bibit tanaman generasi M2 yang dihasilkan dari plantlet yang tahan pada seleksi *in-vitro*. Plantlet tahan pada seleksi *in-vitro* disebut generasi M1, yang selanjutnya diaklimatisasi dan diselfing. Benih yang dihasilkan kemudian disebut sebagai benih M2. Evaluasi ketahanan ditujukan untuk mempelajari kestabilan sifat tahan pada tingkat *in-vitro* saat diuji menggunakan patogen yang sebenarnya (Fom).

HASIL DAN PEMBAHASAN

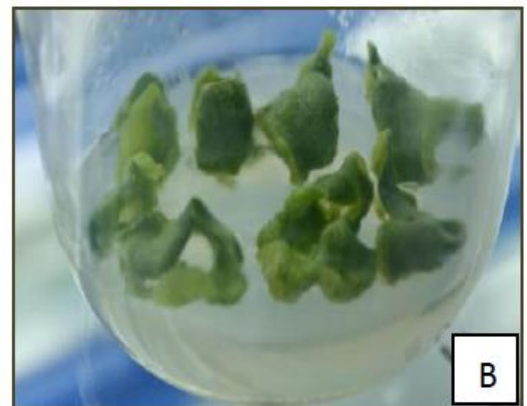
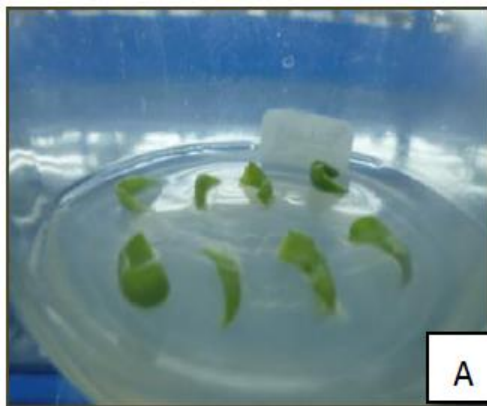
Semua galur melon yang ditanam pada media perkecambahan menunjukkan respon yang baik. Persentase biji yang mampu berkecambah

lebih dari 90%, dimana M-8 menunjukkan respon daya kecambah tertinggi dibandingkan galur yang lain yaitu 94% (Tabel 1). Kotiledon mulai muncul pada umur 7-9 hari setelah biji ditanam. Kotiledon yang digunakan sebagai eksplan untuk induksi kalus adalah kotiledon yang telah berumur 14 hari setelah tanam. Kotiledon selanjutnya dipotong menjadi empat bagian dengan ukuran masing-masing 0,5 cm dan ditanam secara horisontal pada media induksi kalus (Gambar 1A). Inisiasi kalus baru terbentuk setelah kotiledon berumur 7-10 hari pada media induksi kalus (Gambar 1B).

Tabel 2. Persentase perkecambahan lima galur melon pada media perkecambahan

Galur	Daya Kecambah (%)
M-8	94
M-13	90
M-21	92
M-27	92
M-72	90

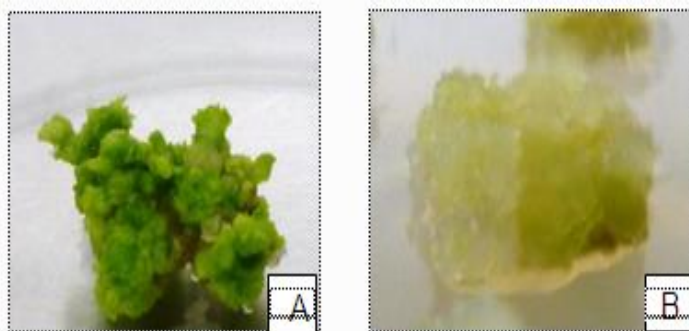
Keterangan: Jumlah biji yang dikecambahkan untuk masing-masing galur = 50 biji.



Gambar 1. A. Kotiledon yang ditanam secara horisontal pada media induksi kalus; B. Kalus awal yang terbentuk satu minggu setelah subkultur.

Dua jenis kalus diperoleh dari kotiledon yang diinduksi pada media induksi kalus yaitu kalus embriogenik dan kalus non embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang potensial untuk diregenerasikan menjadi

plantet. Kalus embriogenik pada umumnya ditandai dengan bentuknya yang *friable*, tidak berair, memiliki *green spot* dan berwarna kehijauan. Sedangkan kalus non embriogenik adalah kalus yang sulit untuk diregenerasikan dengan tanda-tanda berair, berwarna kuning pucat, dan tidak memiliki struktur globular (Gambar 2B). Namun pada penelitian ini, kalus embriogenik yang dihasilkan memiliki struktur yang kompak, memiliki banyak bakal tunas, dan berwarna hijau (Gambar 2A). Kalus yang memiliki bentuk friable ternyata tidak dapat diregenerasikan menjadi tunas. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian mengenai induksi kalus pada famili Cucurbitaceae, dimana kalus embriogenik memiliki struktur kompak, kehijauan dan memiliki banyak struktur globular (Awatef and Mohamed, 2012; Thiruvengadam *et al*, 2012).



Gambar 2. A. Kalus embriogenik; B. Kalus non embriogenik.

Persentase kalus embriogenik yang terbentuk bervariasi pada lima galur yang digunakan yaitu dari yang terendah 58,97% ditunjukkan oleh galur M-27 sampai dengan yang tertinggi 82,44% ditunjukkan oleh galur M-13 (Tabel 2). Kalus embriogenik yang telah berumur 2-3 minggu adalah kalus yang digunakan sebagai eksplan pada media skrining *in-vitro*.

Pada umumnya zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk menginduksi kalus adalah golongan auksin terutama 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sebagaimana penelitian Sukmawati (2009) yang menyebutkan penambahan 1 mg/L 2,4-D pada media menghasilkan kalus melon hingga 44,3% menggunakan eksplan berupa biji

muda. Pada penelitian yang lain kombinasi antara 0,25 mg/l 2,4-D dengan 0,25 mg/l BAP dapat menginduksi kalus sampai dengan 62,5% menggunakan eksplan berupa kotiledon (Awatef and Mohamed, 2012).

Tabel 2. Pembentukan kalus lima galur melon pada media induksi kalus.

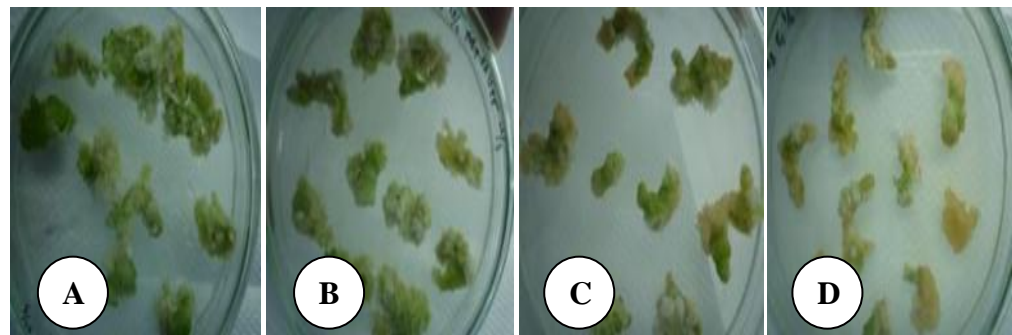
Galur	Kalus embriogenik	Kalus non embriogenik
M-8	73,1	26,8
M-13	82,4	17,5
M-21	76,8	23,1
M-27	58,9	41,0
M-72	61,08	38,92

Penelitian kami menunjukkan bahwa penggunaan BAP tunggal dengan konsentrasi 3 mg/l mampu menginduksi kalus embriogenik. Hal ini diduga karena penggunaan sitokinin dalam jumlah besar seperti BAP maupun thidiazuron secara eksogen dapat mengubah keseimbangan hormon tanaman sehingga sel-sel tidak terdiferensiasi dengan teratur menyebabkan pembentukan kalus. Sebagaimana yang disebutkan oleh Gunawan (1992) bahwa penambahan auksin maupun sitokinin secara eksogen dapat mengubah level hormon endogen yang merupakan pemacu untuk diferensiasi sel dan morfogenesis. Sedangkan pemilihan kotiledon sebagai eksplan untuk induksi kalus, disebabkan respon kotiledon pada media induksi kalus lebih baik dibandingkan biji (Awatef and Mohamed, 2012; Thiruvengadam *et al*, 2012).

Skrining *in-vitro* dilakukan dengan menanam kalus embriogenik pada media skrining yang mengandung asam fusarat dengan konsentrasi yang beragam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi asam fusarat 15 ppm, kalus dapat tumbuh dan berkembang dengan baik tidak berbeda nyata dengan pertumbuhan kalus pada media kontrol yang tidak mengandung asam fusarat. Pertumbuhan kalus yang baik ditandai dengan pertumbuhan kalus yang semakin besar dan mampu beregenerasi membentuk struktur tunas (Gambar 3A dan 3B).

Penurunan pertumbuhan kalus mulai terlihat saat dipaparkan pada

media yang mengandung 30 ppm asam fusarat dan berlanjut pada media yang mengandung 60 ppm asam fusarat. Penurunan pertumbuhan kalus mulai terlihat saat kalus berumur 2 minggu setelah ditanam pada media skrining. Kalus yang tidak tahan terlihat mengalami perubahan warna menjadi lebih pucat, ukuran kalus menyusut dan muncul gejala nekrosis (Gambar 3C dan 3D). Dari lima galur yang diuji, galur M-21 memiliki tingkat ketahanan yang paling baik dibandingkan empat galur yang lain.



Gambar 3. Penampilan kalus pada media yang mengandung beberapa konsentrasi asam fusarat. A. Kalus pada 0 ppm asam fusarat; B. Kalus pada 15 ppm asam fusarat; C. Kalus pada 30 ppm asam fusarat; D. Kalus pada 60 ppm asam fusarat.

Tabel 3. Respon lima galur melon terhadap media skrining yang mengandung asam fusarat.

Galur	Jumlah Kalus yang Mati pada Media Skrining			
	0 ppm	15 ppm	30 ppm	60 ppm
M-8	0	0	50 ± 10,00	90 ± 7,07
M-13	0	0	50 ± 15,81	66 ± 11,40
M-21	0	0	12 ± 8,37	30 ± 7,07
M-27	0	0	60 ± 7,07	92 ± 8,37
M-72	0	0	60 ± 18,17	62 ± 14,83

Keterangan : Jumlah kalus yang dipaparkan pada media skrining sebanyak 50 kalus/galur pada tiap perlakuan.

Jumlah kalus yang mati pada media skrining adalah indikator efektif atau tidaknya media tersebut untuk digunakan sebagai media skrining *in-vitro*. Pada umumnya digunakan standar konsentrasi yang mampu mematikan 50% kalus (LC50). Dari hasil pengamatan di atas, terlihat bahwa

media yang mengandung 30 ppm asam fusarat sudah bisa digunakan sebagai media skrining untuk empat galur yaitu M-8, M-13, M-27, dan M-72, karena bisa mematikan kalus antara 50-60% kalus, namun belum efektif untuk menskrining galur M-21 yang hanya mematikan 12% kalus. Pada konsentrasi 60 ppm asam fusarat, jumlah kematian kalus pada kelima galur mengalami peningkatan, bahkan pada M-8 dan M-27 mencapai diatas 90%, namun hanya bisa mematikan kalus M-21 hingga 30% (Tabel 3). Hasil skrining secara *in-vitro* menunjukkan bahwa galur M-21 adalah yang memiliki ketahanan paling baik, sedangkan M-27 adalah yang paling rentan. Perbedaan respon lima galur ini terhadap asam fusarat sebagai komponen seleksi dipengaruhi oleh genotipe masing-masing galur.

Pada beberapa penelitian seleksi *in-vitro* terhadap fusarium, diketahui bahwa konsentrasi asam fusarat 30-45 ppm adalah konsentrasi terbaik untuk menginduksi ketahanan pada tanaman pisang. Sedangkan pada tanaman semangka, konsentrasi 25-50 ppm asam fusarat menyebabkan penurunan berat biomassa (Sukmadjaja *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2008). Efektivitas asam fusarat dalam seleksi *in-vitro* disebabkan karena asam fusarat adalah racun yang bersifat general, sehingga bisa diaplikasikan untuk mensimulasikan serangan jamur fusarium secara umum. Selain itu penelitian yang dilakukan Venter dan Steyn (1998) menunjukkan bahwa secara umum hubungan antara asam fusarat dengan virulensi fusarium adalah berbanding lurus, dimana semakin tinggi konsentrasi asam fusarat mengindikasikan virulensi yang semakin tinggi. Penelitian yang lain dilaporkan bahwa penggunaan asam fusarat pada kultur *in-vitro* mampu menghasilkan 6 somaklon tanaman pisang, fanili sebanyak 23 galur dan gandum yang tahan terhadap fusarium (Lestari *et al.*, 2006; Sukmadjaja *et al.*, 2002).

Parameter lain yang diamati adalah kemampuan regenerasi dari kalus yang tahan pada media seleksi. Pada tahap regenerasi galur M-13 adalah galur yang paling responsif, galur tersebut mampu diregenerasikan

hingga 82,35%. Sedangkan galur M-21 yang paling tahan pada tahap seleksi *in-vitro* bisa diregenerasikan sebesar 48,57% (Tabel 4). Oleh karena itu pada tahap evaluasi ketahanan tanaman hasil seleksi *in-vitro* di tingkat *green house* digunakan galur M-13 sebagai model, dan diasumsikan galur yang lain memiliki pola yang hampir sama.

Tabel 4. Jumlah kalus yang dapat beregenerasi pada media regenerasi

Galur	Jumlah kalus yang hidup pada media seleksi				Jumlah kalus yang beregenerasi (%)			
	0 ppm	15 ppm	30 ppm	60 ppm	0 ppm	15ppm	30ppm	60ppm
M-8	50	50	25	5	86,00	66,67	60,00	60,00
M-13	50	50	25	17	90,00	84,00	80,00	82,35
M-21	50	50	44	35	80,00	72,00	47,73	48,57
M-27	50	50	20	4	80,00	60,00	55,00	50,00
M-72	50	50	20	19	80,00	70,00	65,00	47,37

Inokulasi dilakukan menggunakan Fom isolat MEKP 3.2. Hasil pengujian ketahanan tanaman hasil seleksi *in-vitro* menunjukkan bahwa seleksi *in-vitro* dapat meningkatkan status ketahanan tanaman dan menurunkan persentase tingkat serangan layu fusarium. Status ketahanan melon yang diuji mulai yang paling rendah sampai yang paling tinggi berturut-turut adalah M-13 kontrol, M-13 yang berasal dari media seleksi yang mengandung 15 ppm asam fusarat, selanjutnya M-13 yang berasal dari media seleksi yang mengandung 30 ppm dan 60 ppm asam fusarat memiliki tingkat ketahanan yang sama dan terbaik (Tabel 5).

Tabel 5. Status ketahanan tanaman melon hasil seleksi *in-vitro* pada tingkat *green house*

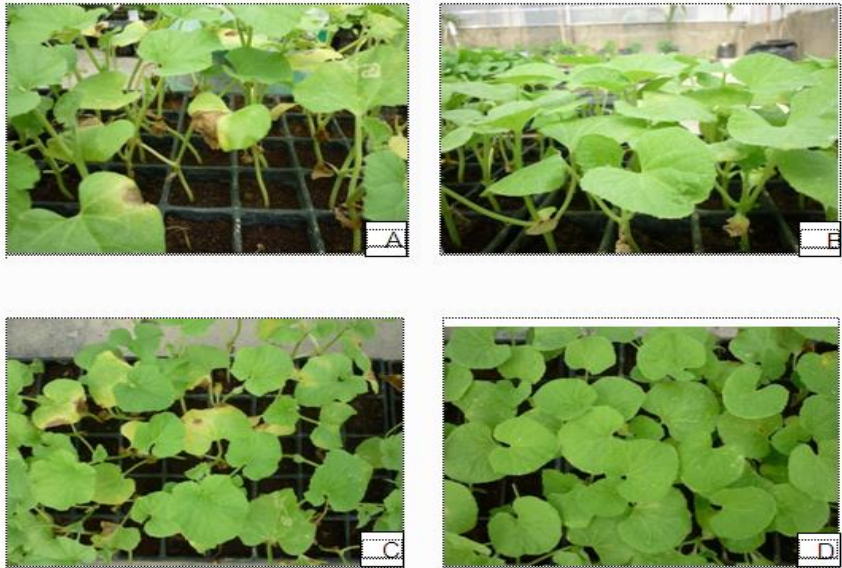
Nomor	Kejadian penyakit (%)	Status ketahanan
M-13 A (kontrol)	13	MS
M-13 B (15 ppm asam fusarat)	10	MR
M-13 C (30 ppm asam fusarat)	0	R
M-13 D (60 ppm asam fusarat)	0	R

Keterangan : MR = mederat

MS = moderat rentan

R = tahan

Penampilan antara tanaman yang tahan dengan yang rentan terlihat jelas pada batang dan daun. Tanaman tahan memiliki batang yang lebih besar, tegar dan daunnya berwarna hijau tanpa ada gejala nekrosis. Sementara itu, tanaman rentan batangnya terlihat layu dan kecil, serta daunnya menguning dan pada tahap lebih lanjut tanaman akan rebah dan mati (Gambar 4).



Gambar 4. Respon tanaman terhadap inokulasi Fom pada kegiatan evaluasi ketahanan tanaman hasil seleksi *in-vitro*. A. Gejala serangan pada tanaman kontrol (layu pada batang, nekrosis pada daun, dan dalam kondisi parah tanaman mati); B. Tanaman yang tahan pada tahap seleksi *in-vitro* level 60 ppm asam fusarat tidak bergejala; C. Tanaman kontrol dilihat dari atas; D. Tanaman yang tahan pada tahap seleksi *in-vitro* level 60 ppm asam fusarat dilihat dari atas.

Berdasarkan data pada Tabel 5 terlihat bahwa seleksi *in-vitro* dapat meningkatkan status ketahanan tanaman melon terhadap serangan Fom. Kejadian penyakit layu fusarium pada tanaman hasil seleksi *in-vitro* saat evaluasi ketahanan pada tingkat *green house* menurun dibandingkan tanaman kontrolnya. Mengacu pada Yunita dan Sudarsono (2004), tanaman kontrol yang memiliki kejadian penyakit sebesar 13% dikategorikan

sebagai moderat rentan (MS) sedangkan tanaman hasil seleksi *in-vitro* memiliki ketahanan yang lebih baik yaitu moderat tahan (MR) dan tahan (R). Tanaman yang berasal dari media seleksi dengan kandungan asam fusarat 15 ppm memiliki angka kejadian penyakit yang lebih kecil dibandingkan kontrol yaitu 10% dengan status moderat tahan (MR). Tanaman yang bertahan pada media seleksi yang mengandung asam fusarat 30 ppm dan 60 ppm memiliki ketahanan terbaik dimana tidak ada tanaman yang bergejala dengan status tahan (R).

Berdasarkan hasil tersebut diatas terlihat bahwa seleksi *in-vitro* menggunakan asam fusarat dengan dosis 30 ppm dan 60 ppm mampu memberikan peningkatan ketahanan tanaman melon terhadap layu fusarium. Data pada seleksi *in-vitro* menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis asam fusarat memberikan tekanan yang lebih tinggi pula terhadap pertumbuhan kalus, dimana pada dosis 30 ppm tercapai LC50 untuk 4 galur (Tabel 3). Seleksi *in vitro* diharapkan mampu menggambarkan serangan Fom dilapangan sehingga tanaman yang bertahan pada media seleksi yang mengandung asam fusarat lebih tinggi diduga akan memiliki ketahanan yang lebih baik. Hasil evaluasi ketahanan yang dilakukan pada tingkat *greenhouse*, menunjukkan tanaman yang dihasilkan dari media yang mengandung asam fusarat 30 ppm dan 60 ppm memiliki tingkat ketahanan terbaik (Tabel 5).

Asam salisilat secara umum berkaitan dengan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Hasil pengukuran asam salisilat tanaman melon menunjukkan bahwa secara umum kandungan asam salisilat pada tanaman melon sangat kecil bahkan dari lima galur melon kontrol (galur awal yang tidak diinokulasi) yang diukur, empat galur tidak memiliki asam salisilat yaitu galur M-8, M-13, M-27 dan M-72. Sedangkan satu galur lainnya yaitu galur M-21 memiliki kandungan asam salisilat endogen sebesar 0,095 ppm. Setelah dilakukan inokulasi terlihat pola bahwa secara keseluruhan melon

yang diinokulasi akan mengalami peningkatan kandungan asam salisilat (Tabel 6).

Tabel 6. Kandungan asam salisilat lima galur melon sebelum inokulasi dan setelah diinokulasi menggunakan Fom isolat MEKP 3.2

Galur	Kandungan Asam Salisilat ($\mu\text{g/g}$)			Status ketahanan tingkat <i>in-vitro</i>
	Sebelum inokulasi	4 hari setelah inokulasi	Kematian kalus (%)	
M-8	0,000	0,150	$90 \pm 7,07$	Rentan
M-13	0,000	0,009	$66 \pm 11,40$	Moderat
M-21	0,095	0,141	$30 \pm 7,07$	Tahan
M-72	0,000	0,008	$62 \pm 14,83$	Moderat

Peningkatan kandungan asam salisilat pada kelima galur melon yang digunakan dalam penelitian merupakan respon pertahanan akibat adanya infeksi. Hal ini sesuai dengan pendapat Sudha dan Ravishankar (2002) bahwa asam salisilat merupakan salah satu sinyal kunci tanaman dalam merespon infeksi patogen. Asam salisilat pada umumnya akan disintesis oleh tanaman saat terjadi serangan patogen. Pada tanaman tembakau dan timun kandungan asam salisilat akan meningkat ketika terjadi infeksi patogen. Tanaman tembakau yang diinokulasi dengan *Tobacco mosaic virus* (TMV) mengalami peningkatan kandungan asam salisilat pada daun. Sementara itu pada tanaman timun yang diinokulasi menggunakan *Tobacco necrosis virus* atau jamur *Colletotrichum lagenarium* menunjukkan peningkatan kandungan asam salisilat pada jaringan floem daun. Hal yang sama juga dijumpai pada tanaman tomat dan *Arabidopsis*.

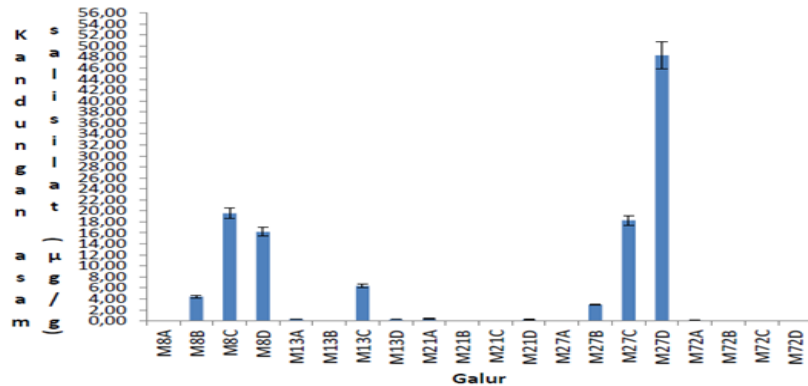
Hubungan antara asam salisilat pada tanaman melon yang tanpa perlakuan iradiasi dengan status ketahanan, memperlihatkan bahwa galur melon yang memiliki kandungan asam salisilat endogen ternyata mempunyai tingkat ketahanan terbaik yaitu M-2. Galur M-21 pada tahap seleksi *in-vitro* menunjukkan tingkat kematian kalus terkecil yaitu hanya sebesar 30% pada media seleksi yang mengandung asam fusarat tertinggi sebesar 60 ppm (Tabel 3). Sedangkan galur yang secara alami tidak memiliki kandungan asam salisilat mengindikasikan ketahanan yang

lebih rendah. Hal ini sebagaimana pada tanaman padi yang memiliki kandungan asam salisilat tinggi pada kondisi alaminya, diketahui juga memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap serangan *blast* (Silverman *et al.*, 1995).

Galur yang sangat rentan yaitu M-8 dan M-27 memiliki peningkatan asam salisilat yang paling tinggi (Tabel 6). Kandungan asam salisilat yang tinggi pada eksplan M-8 dan M-27 setelah diinokulasi ternyata membuat status ketahanan galur M-8 dan M-27 menjadi rentan. Hal ini mungkin disebabkan galur-galur tersebut termasuk yang sensitif terhadap asam salisilat. Selain itu, diduga kedua galur tersebut tidak mampu mengaktifkan senyawa antioksidan untuk memperbaiki kerusakan sel akibat respon hipersensitif yang diaktifkan saat terdapat serangan patogen. Hal yang sama dijumpai pada tanaman tembakau dan Arabidopsis yang mengalami peningkatan asam salisilat cukup tinggi namun gagal mengaktifkan antioksidan, akan memunculkan respon kematian sel yang tidak terkendali sehingga pada kondisi fenotip terlihat sebagai gejala tanaman yang rentan (Yang *et al.*, 2004). Peningkatan kandungan asam salisilat yang tinggi pada M-8 dan M-27 yang tidak disertai dengan peningkatan status ketahanan diduga juga disebabkan galur tersebut lambat dalam sintesis asam salisilat, sebagaimana yang terjadi pada tanaman padi dalam merespon serangan penyakit *blast* (Silverman *et al.*, 1995).

Peningkatan kandungan asam salisilat pada eksplan *in-vitro* sangat tinggi dibandingkan peningkatan kandungan asam salisilat pada level tanaman. Peningkatan kandungan asam salisilat pada tanaman fase bibit berkisar antara 0,008 $\mu\text{g/g}$ sampai 0,150 $\mu\text{g/g}$ (Tabel 7), sedangkan pada eksplan *in-vitro* peningkatan kandungan asam salisilat bisa mencapai 48,26 $\mu\text{g/g}$ (Gambar 10). Perbedaan peningkatan kandungan asam salisilat antara eksplan *in-vitro* dengan tingkat tanaman fase bibit diduga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang berbeda serta tipe jaringan yang berbeda pula. Meskipun terdapat perbedaan pada peningkatan kandungan asam salisilat

eksplan yang ditanam pada media seleksi *in-vitro* dengan asam salisilat pada level tanaman fase bibit, namun secara umum pola kandungan asam salisilat terkait dengan status ketahanannya adalah sama. Galur M-21 yang memiliki kandungan asam salisilat endogen tertinggi, memiliki ketahanan yang paling baik pada level tanaman fase bibit maupun pada kondisi *in-vitro* (Tabel 7 dan Gambar 10).



Gambar 10. Kandungan asam salisilat eksplan pada media seleksi *in-vitro* yang mengandung beberapa konsentrasi asam fusarat yang berbeda. A, media kontrol tanpa asam fusarat; B, media yang mengandung asam fusarat 15 mg/l; C, media yang mengandung asam fusarat 30 mg/l; D, media yang mengandung asam fusarat 60 mg/l.

Gambar 10 menunjukkan bahwa Galur M-21 yang memiliki tingkat ketahanan terbaik pada tingkat *in-vitro* memiliki kandungan asam salisilat endogen tertinggi yaitu 0,39 µg/g. Sedangkan galur M-27 yang paling rentan tidak memiliki kandungan asam salisilat endogen namun peningkatan kandungan asam salisilatnya adalah yang tertinggi yaitu sampai sebesar 48,26 µg/g, diikuti oleh galur M-8 yang memiliki peningkatan kandungan asam salisilat sebesar 19,55 µg/g. Sebagaimana dijelaskan oleh Silverman (1995) bahwa tanaman yang memiliki kandungan asam salisilat endogen tinggi akan memiliki ketahanan yang lebih baik dibandingkan tanaman yang tidak memiliki atau memiliki kandungan asam salisilat yang lebih kecil. Sedangkan peningkatan kandungan asam salisilat pada galur yang

rentan diduga disebabkan karena melon merupakan jenis tanaman yang sensitif asam salisilat sebagaimana tanaman timun (Sudha and Ravishankar, 2002) dan tidak mampu mengaktifkan antioksidan sebagai respon dalam mencegah kematian sel sebagai reaksi hipersensitif terhadap serangan patogen (Yang *et al.*, 2004).

KESIMPULAN

Asam fusarat konsentrasi 30-60 ppm efektif digunakan untuk seleksi ketahanan terhadap layu fusarium secara *in-vitro*. Galur yang memiliki tingkat ketahanan terbaik pada tingkat *in-vitro* adalah galur M-21. Namun galur yang paling responsif pada tahap regenerasi adalah galur M-13. Tanaman tahan memiliki kandungan asam salisilat endogen lebih tinggi dari tanaman rentan. Tanaman yang dihasilkan melalui seleksi *in-vitro* memiliki ketahanan yang lebih baik dibandingkan tetuanya (*wild type*) terhadap layu fusarium. Ketahanan pada tingkat *in-vitro* berhubungan dengan ketahanan tanaman pada tingkat *green house*. Seleksi *in-vitro* efektif digunakan untuk perakitan tanaman melon tahan terhadap layu fusarium.

DAFTAR PUSTAKA

- Awatef, R. and B. Mohamed. 2012. An efficient method for production of Tunisian melon (*Cucumis melo* L. cultivars Maazoun and Beji) by somatic embryogenesis. *African Journal of Biotechnology* 11(42): 9924-9931.
- Bacon, W., J. K. Porter, W. P. Norred, and J. F. Leslie. 1996. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. *Applied Environ. Microb* 62 (11): 4039-4043.
- Badan Pusat Statistik Republik Indonesia. 2009. Produksi sayuran di Indonesia. Jakarta.
- Corina V. A., D. A. Dempsey, and D. F. Klessig. 2009. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. *Annu. Rev. Phytopathol* 47: 177-206.
- Gunawan. L. W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU. Bioteknologi IPB. 252p.
- Larkin, P. J. and W. R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation-a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60: 197-214.

- Lestari, E. G, D. Sukmadjaja, dan I. Mariska. 2006. Perbaikan ketahanan tanaman panili terhadap penyakit layu melalui kultur in-vitro. *Jurnal litbang pertanian* 25 (4).
- Predieri, S. 2001. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. *Plant Cell Tiss. Org. Cult* 64: 185-210.
- Rebbeca, L., B. Larson, and B.J. Jacobsen. 2007. Biocontrol elicited systemic resistance in sugarbeet is salicylic acid independent and NPR1 dependent. *J. Sugarbeet Res.* Vol. 44 Nos. 1&2.
- Risser, G., Z. Banihashemi, and D.W Davis. 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f.sp. melonis races and resistance genes in *Cucumis melo*. *Phytopathology* 66: 1105-1106.
- Rouhou-Chikh, H., R. G. Torres, and J.M. Alvarez. 2008. Characterization of the resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* race 1.2 in *Cucumis melo* 'BG-5384'. Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics dan breeding of Cucurbitaceae (Pitrad M, ed) May 21-24th 2008. INRA, Avignon. France.
- Silverman, P., S. Mirjana, K. Dwight, S. Patrick, P.M. Jean, and R. Ilya. 1995. Salicylic acid in rice-biosynthesis, conjugation, and possible role. *Plant Physiol.* 108: 633-639.
- Sudha, G. and G.A. Ravishankar. 2002. Involvement and interaction of various signaling compounds on the plant metabolics even during defense response, resistance to stress factors, formation of secondary metabolites and their molecular aspects. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 71: 181-212.
- Sukmadjaja, D., I. Mariska, E.G. Lestari, M. Kosmiatin, dan M. Tombe Hobir. 2002. Seleksi silang tunas abaka dengan asam fusarat atau filtrat *Fusarium oxysporum* dan regenerasinya membentuk plantlet. Prosiding seminar hasil penelitian rintisan dan bioteknologi tanaman: 276-288.
- Sukmawati, F. dan D. Efendi. 2009. Induksi embrio somatic melon (*Cucumis melo* L.) pada berbagai media dan zat pengatur tumbuh. Dept. Agronomi dan Hortikultura. IPB.
- Sumirat, D. 2003. Jamur fusarium menyerang lahan melon di Nganjuk. <<http://berita.liputan6.com/read/49491/jamur-fusarium-menyerang-lahan-melon-di-nganjuk>>. Diakses tanggal 6 Februari 2012.
- Thiruvengadam, M., N. Praveen, IM. Chung. *In-vitro* regeneration from intermodal explants of bitter melon (*Momordica charantia* L.) via indirect organogenesis. *African Journal of Biotechnology* 11(33): 8218-8224.
- Venter, S.L. and P.J Steyn. 1998. Correlation between fusaric acid production and virulence of isolates of *Fusarium oxysporum* that causes potato dry rot in South Africa. *Potato Res.* 41: 289-294.
- Wu, H.S., W. Bao, D-Y. Liu, N. Ling, R-R. Ying, W. Raza, Q-R. Shen. 2008. Effect of fusaric acid on biomass and photosynthesis of watermelon

- seedlings leaves. *Caryologia* 61: 258-268.
- Yang, Y., Q. Min., and M. Chuansheng. 2004. Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress. *Plant J.* 40: 909-919.
- Yusnita, S. 2004. Metode inokulasi dan reaksi ketahanan 30 genotipe kacang tanah terhadap penyakit busuk batang *Sclerotium*. *Hayati* 11:53-58.
- Zink, F.W. and Gubler, W.D. 1985. Inheritance of resistance in muskmelon to *Fusarium* wilt. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110(5): 600-604. *In*: Guideline (s) for identification of races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (causing *Fusarium* wilt) using Differential host lines. APS- ISF collaboration.
- Zitter, T.A. 1998. Vegetable crops: *Fusarium* diseases of cucurbits fact sheet. Department of plant pathology. Cornell University. NewYork.